

(08) 00 96 925.9



**PCT**  
WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales Büro  
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation <sup>7</sup> : <b>A61L 24/10, 15/32, 15/42</b>		<b>A1</b>	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: <b>WO 00/38752</b> (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: <b>6. Juli 2000 (06.07.00)</b>
(21) Internationales Aktenzeichen: <b>PCT/EP99/06898</b> (22) Internationales Anmeldedatum: <b>17. September 1999 (17.09.99)</b> (30) Prioritätsdaten: 198 59 611.1      23. Dezember 1998 (23.12.98)      DE 199 28 372.9      21. Juni 1999 (21.06.99)      DE 199 28 371.0      21. Juni 1999 (21.06.99)      DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): <b>CENTEON PHARMA GMBH [DE/DE];</b> <b>Emil-von-Behring-Strasse 76, D-35041 Marburg (DE).</b> (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): <b>RAPP, Mirna [DE/DE];</b> <b>Rotenberg 14, D-35037 Marburg (DE).</b> (74) Anwalt: <b>KEIL &amp; SCHAAFHAUSEN; Cronstettenstrasse 66,</b> <b>D-60322 Frankfurt am Main (DE).</b>		(81) Bestimmungsstaaten: <b>AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</b>  <b>Veröffentlicht</b> <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i>	

(54) Title: **FIBRIN-BASED GLUE GRANULATE AND CORRESPONDING PRODUCTION METHOD**

(54) Bezeichnung: **FIBRINKLEBERGRANULAT UND VERFAHREN ZU DESSEN HERSTELLUNG**

(57) Abstract

The invention relates to a flowable fibrin glue granulate containing thrombin, factor XIII, fibrinogen and a calcium salt in the form of granules with a particle size of more than 50  $\mu\text{m}$  to 1000  $\mu\text{m}$ . Said granulate is useful for the healing of wounds in surgery, tissue therapy and/or as supporting material for biological factors. The invention also relates to an effervescent granulate and an effervescent powder for producing a foam that is suitable for hemostasis. The invention further relates to preparations to arrest bleeding containing a nonwoven fabric for wounds consisting of a biodegradable supporting material that is coated with a fibrin glue granulate mixture or mixed granulate.

(57) Zusammenfassung

Es wird ein rieselfähiges Fibrinklebergranulat beschrieben, das Thrombin, Faktor XIII, Fibrinogen und ein Kalziumsalz in Granulatkörnern mit einer Partikelgröße von über 50  $\mu\text{m}$  bis 1000  $\mu\text{m}$  enthält. Es eignet sich zur Wundheilung in der Chirurgie, der Gewebstherapie und/oder als Trägermaterial für biologische Faktoren. Außerdem wird ein Brausegranulat und ein Brausepulver zur Erzeugung eines zur Blutstillung geeigneten Schaumes beschrieben. Schließlich werden auch Zubereitungen zur Stillung von Blutungen beschrieben, die ein aus einem bioabbaubaren Trägermaterial bestehendes Wundvlies enthalten, welches mit einem Fibrinkleber-Granulatgemisch oder -Mischgranulat beschichtet ist.

### LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

- 1 -

## 57 Fibrinklebergergranulat und Verfahren zu dessen Herstellung

10 Gegenstand der Erfindung ist ein rieselfähiges Fibrinkleber-  
granulat, das alle zur Bildung eines stabilen Fibringels  
erforderlichen Substanzen enthält und direkt zur Wundver-  
klebung eingesetzt werden kann. Es wird durch die Sprühtrock-  
nung in der Wirbelschicht mittels eines Fluidisationsgases  
15 erzeugt.

Es ist bekannt, daß nach der Entstehung einer Wunde die  
Wundheilung durch eine Aktivierungskaskade mehrerer hinterein-  
andergeschalteter Gerinnungsfaktoren eingeleitet wird. Daraus  
20 resultiert am Ende die Reaktion zwischen dem aktivierten  
Thrombin und Fibrinogen in Gegenwart von Kalziumionen zur  
Bildung einer Fibrinmatrix, die schließlich die Wunde abdeckt  
und somit eine Hämostase bewirkt. Diese Fibrinmatrix wird  
durch den aktivierten Faktor XIII (F XIIIa) über zusätzliche  
25 kovalente Bindungen weiter verfestigt, wodurch deren mecha-  
nische Stabilität und Resistenz gegen einen vorzeitigen  
proteolytischen Abbau erhöht wird.

In der modernen Chirurgie gewinnt die Hämostase durch  
30 Fibrinklebung zunehmend an Bedeutung, da es sich bei dem  
sogenannten Fibrinkleber um ein gut verträgliches und die  
Wundheilung förderndes Biomaterial handelt. Diese Methode  
eignet sich hervorragend zur Hämostase von stark blutenden  
Wunden bei Operationen an parenchymatösen, inneren Organen,

- 2 -

und äußeren Verletzungen, vor allem aber auch zur unterstützenden Abdichtung von Nähten zur Vermeidung postoperativer Blutungen. In der HNO- und Gesichtschirurgie wird für die Heilung äußerer Wunden der Fibrinkleber dem Nahtverschluß aus kosmetischen Gründen vorgezogen. Auch wird der Fibrinkleber zunehmend in der endoskopischen Chirurgie z. B. zur Blutstillung von Magengeschwüren eingesetzt.

Die heute im Handel befindlichen Fibrinkleber wie Beriplast® enthalten neben anorganischen Salzen und Aminosäuren die aus dem Humanplasma gewonnenen Gerinnungsfaktoren Fibrinogen, Thrombin und Faktor XIII, zusätzlich aber auch Albumin und Fibronektin zur Förderung der Wundheilung. Obwohl das Präparat sehr gute biochemische und hämostatische Eigenschaften aufweist, bedarf es einer aufwendigen Vorbereitung vor seiner Anwendung. Die voneinander getrennten Fibrinogen- und Thrombinlyophilisate werden separat aufgelöst, in zwei voneinander getrennten Spritzen aufgezogen und in eine spezielle Halterung/Vorrichtung eingespannt. Dieses Verfahren erfordert neben viel Zeit auch gut geschultes Personal. Eine Variante des Fibrinklebers wird als Tissucol® wird bereits in fertig gelöster Form in Spritzen in den Handel gebracht, ist jedoch nur bei tiefen Temperaturen von -20 °C lagerfähig und muß vor der Anwendung im Wasserbad aufgetaut werden. Somit finden beide Varianten des Fibrinklebers keine Anwendung in Situationen, wo ein gebrauchsfertiger und sofort ohne Vorbereitungen einsetzbarer Fibrinkleber von Nöten ist. Außerdem wäre ein gebrauchsfertiger und gut dosierbarer Fibrinkleber auch deshalb kostengünstiger, weil überschüssiges Material weder unnötig vorbereitet noch verworfen zu werden braucht.

Eine mögliche Verbesserung der Handhabung des Fibrinklebers könnte ein Einkomponentenkleber sein, der alle zur Bildung des

- 3 -

Die Entwicklung eines Einkomponentenklebers in einer wässrigen Lösung ist allerdings in der Praxis sehr schwer realisierbar. Eine Möglichkeit besteht allenfalls darin, die Komponenten des Fibrinklebers im getrockneten Zustand zu mischen, womit sich  
5 diese nach Applikation auf der Wunde in der Blutflüssigkeit oder dem Wundexsudat lösen und in situ eine Fibrinmatrix ausbilden, die eine Hämostase bewirkt. Dafür ist auch notwendig, das naturgemäß schwer lösliche Fibrinogen in eine derartige trockene Form zu bringen, aus der es rasch in Lösung  
10 geht und dabei sofort mit dem Thrombin reagiert.

Es hat auch schon Versuche gegeben, mit einem gezielten Lyophilisationsverfahren Partikel zu entwickeln, die Fibrinogen oder Thrombin enthalten und nach der Herstellung miteinander vermischt auf der Wunde aktiviert werden. So wird in der  
15 Internationalen Patentanmeldung WO 97/44015 die Herstellung sogenannter Mikropartikel auf Fibrinogen- oder Thrombinbasis beschrieben, die jeweils einzeln sprühgetrocknet werden. Diese Mikropartikel bestehen zu über 90 % aus Körnchen mit einer  
20 Größe bis zum 20  $\mu\text{m}$ . Sie sollen gut löslich sein und können miteinander vermischt zur Wundheilung eingesetzt werden. Ein Nachteil dieser Mikropartikel ist allerdings, daß es sich dabei um ein sehr stark staubendes Pulver handelt, wodurch eine direkte Applikation wie das Aufstreuen auf eine Wunde  
25 nicht möglich ist. Ein derartiges Pulver benötigt daher ein spezielles Applikationssystem, was seine Handhabung und klinischen Indikationen drastisch einschränkt.

Es stellte sich deshalb die Aufgabe, ein Fibrinklebergranulat  
30 zu entwickeln, das gut löslich, rieselfähig und nicht staubend ist und damit direkt auf die Wunde aufgestreut werden kann z. B. nach dem Prinzip eines Salzstreuers.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß durch ein rieselfähiges



Fibrinogen und ein Kalziumsalz in Granulatkörnchen mit einer Partikelgröße von über 50 bis etwa 1000  $\mu\text{m}$ , vorzugsweise mit einer Partikelgröße von 100 bis 200  $\mu\text{m}$  enthält. Aufgrund dieser Partikelgröße ist das erfindungsgemäße Fibrinklebergranulat nicht staubend, gut löslich und rieselfähig und kann  
5 hervorragend auf eine Wundfläche oder ein feuchtes Gewebe aufgetragen werden, wo es sofort eine Fibrinmatrix ausbildet.

Einem derartigen Fibrinklebergranulat können auch noch  
10 Albumin, Fibronectin, Aminosäuren und physiologisch verträgliche anorganische Salze zugesetzt werden. Es kann außerdem als ein Freisetzungssystem für biologische, pflanzliche und/oder synthetische Faktoren verwendet werden. Diese Faktoren können die Wundheilung unterstützen oder als  
15 Antifibrinolytika, Antibiotika, Chemotherapeutika oder Immunmodulatoren wirken. Sie werden dem Fibrinklebergranulat während des Sprühtrocknungsprozesses zugesetzt.

Ein geeignetes Verfahrensprinzip für die Herstellung des  
20 erfindungsgemäßen Fibrinklebergranulats ist bereits aus der Internationalen Patentanmeldung WO 96/15849 bekannt. Dort ist ein Verfahren zur Trocknung von Blutplasma, Blutplasmafraktionen oder daraus gewonnenen Blutplasmaprodukten beschrieben, bei dem das Behandlungsgut im flüssigen oder gelösten Zustand in  
25 einen evakuierbaren Behälter gesprüht wird, wodurch die Trocknung - bis zur Granulatform - mittels eines Fluidisationsgases in der Wirbelschicht durchgeführt wird. Auf Fibrinogen und Thrombin kann dieses Verfahren jedoch nicht ohne weiteres angewendet werden, da diese Substanzen bekannterweise nach Kontakt mit wässrigen Lösungen zu Fibrin  
30 reagieren. Deshalb kommt die Anwendung wässriger Lösungen für die Sprühtrocknung dieser Komponenten nicht in Frage. Um trotzdem beide Komponenten in einem Partikel zu erhalten, werden die Komponenten erfindungsgemäß in einem einzigen  
35 organischen Lösungsmittel zugesetzt.

- sprühgetrocknet. Fibrinogen, Thrombin und Faktor XIII lassen sich in organischen Lösungsmitteln wie den niederen Alkoholen, vorzugsweise Isopropanol oder Ethanol, Aceton, Nitrilen, flüssigen Karbonsäureestern, Ethern, Chloroform, Dimethylformamid und Dimethylsulfoxid auch in Gegenwart von  $\text{CaCl}_2$  mehr oder weniger homogen suspendieren, ohne daß sie eine Reaktion zu Fibrin zeigen. Nach Entfernung des organischen Lösungsmittels sind sie in wässriger Phase wieder zur Fibrinbildung befähigt.
- 10 Erfindungsgemäß erfolgt die Sprühtrocknung dabei entweder durch das Top-Spray-Verfahren, bei dem die Flüssigkeit im Gegenstrom zum Fluidisationsgas geführt wird oder im Gleichstrom (Bottom-Spray-Verfahren). Durch das Einsprühen des
- 15 flüssigen Behandlungsgutes in den evakuierbaren Behälter durch eine geeignete Düse wird eine feine Verteilung erreicht. Das Fluidisationsgas dient dabei sowohl zur Verwirbelung des zu behandelnden Gutes als auch zur Wärmeübertragung. Deshalb wird ein erwärmtes Gas als Fluidisationsgas eingesetzt. Durch die
- 20 Messung der Produkttemperatur während des Wirbelschichtprozesses und einer darauf basierenden Prozeßsteuerung kann eine produktschonende Trocknung eingehalten werden. Als Fluidisationsgas kann entweder Luft oder ein Inertgas wie Stickstoff eingesetzt werden. Die Trocknung wird dabei so
- 25 lange fortgeführt, bis das Behandlungsgut in fein verteilter Granulatform und einer Partikelgröße von 50 bis etwa 1000  $\mu\text{m}$ , vorzugsweise von 100 bis 200  $\mu\text{m}$  vorliegt.

- Das erfindungsgemäße Fibrinklebergergranulat kann mit oder ohne
- 30 ein in den evakuierbaren Behälter vorgelegtes Trägermaterial hergestellt werden. Als Trägermaterial kommen dabei vor allem Zucker und Zuckeralkohole wie Saccharose, Lactose oder Mannit in Betracht, die gut bioverträglich sind. Es können aber auch Proteine wie Serumalbumin als Trägermaterial eingesetzt
- ist es, die Fibrinkleberkomponenten-

ten selbst, also Fibrinogen, Faktor XIII, Thrombin,  $\text{CaCl}_2$ , oder ihre Gemische in pulverförmigem Zustand als Trägermaterial einzusetzen, auf das die wässrige Lösung oder Suspension der Fibrinkleberkomponenten in organischen Lösungsmittel zwecks  
5 Bildung des Granulates aufgesprüht wird. Der Zusatz eines weiteren Trägermaterials wie einem Zucker, Mannit oder Albumin entfällt dann ganz.

Ein besonders bevorzugtes Verfahren besteht in einer zweistufigen Sprühtrocknung, bei der zuerst ein Fibrinogengranulat hergestellt wird. Dieses Granulat kann neben Fibrinogen auch andere Proteine, Kohlenhydrate, Aminosäuren und physiologisch verträgliche anorganische Salze, zusätzlich aber auch noch ein Kalziumsalz enthalten. Die Partikelgröße dieses Granulates  
10 beträgt mehr als 50 bis etwa 1000  $\mu\text{m}$ , bevorzugt wird jedoch eine Partikelgröße von 100 bis 200  $\mu\text{m}$ . Auf dieses Fibrinogengranulat wird eine feine Thrombin-Suspension in einem organischen Lösungsmittel aufgesprüht, die gelöste Kalziumionen enthalten kann, wenn diese nicht schon dem Fibrinogengranulat zugesetzt waren. Die Konzentration der Kalziumionen  
15 beträgt 1 bis 100 mM, vorzugsweise 10 bis 50 mM. Man erhält auf diese Weise ein Fibrinklebergranulat mit einer Partikelgröße, die vorzugsweise zwischen 100 und 200  $\mu\text{m}$  liegt und eine körnige, sehr gut lösliche Struktur aufweist. Dabei entstehen  
20 keine kompakten Partikel wie kleine Kügelchen, sondern ein Granulat mit vielen feinen Kanälen. Dadurch erreicht man eine relativ große Partikelgröße, wodurch das Produkt gleichzeitig staubfrei und gut löslich wird, ähnlich wie der bekannte Instant-Kaffee. Dieses Granulat läßt sich hervorragend auf  
25 eine Wundfläche aufstreuen und bildet nach Kontakt mit einem wässrigen Medium sofort ein festes und elastisches Fibringel.  
30

Das erfindungsgemäße Fibrinklebergranulat ist jedoch auch durch Sprühtrocknung von Fibrinogen-Konzentrat aus einer  
35 wässrigen Lösung auf eine Vorlage z. B. Mannit, Zucker



- 7 -

Dabei wird zunächst ein Fibrinogen/Mannit-Granulat erhalten, auf das dann anschließend Thrombin/Kalziumsalz, z. B. aus isopropanolischer Suspension, aufgesprüht wird. Das organische Lösungsmittel verhindert die Bildung von Fibrin nach Kontakt von Fibrinogen mit dem Thrombin.

Schließlich ist es aber auch möglich, separat Fibrinogen- und Thrombin-Granulate mit der vorstehend genannten Partikelgröße in getrennten Verfahren herzustellen, wobei beide Substanzen aus wässrigen Lösungen sprühgetrocknet werden können. Allerdings benötigt man dann bei der Herstellung des Thrombingranulates einen ausreichenden Anteil an Trägermaterial, da im Fibrinkleber die Menge an Thrombin gewichtsmäßig um den Faktor  $10^2$  bis  $10^3$  kleiner ist als diejenige von Fibrinogen. Diese beiden Granulate werden miteinander vermischt und können dann entsprechend zur Hämostase und Wundheilung eingesetzt werden.

Die nach den vorstehend genannten Verfahren hergestellten Fibrinklebergranulate wurden anschließend auf ihre biomechanischen Eigenschaften untersucht und dabei die folgenden Ergebnisse erzielt:

Reisskraft nach in vitro Hautklebung (Klebefläche:  $2,25 \text{ cm}^2$ )

Ergebnis einer Vergleichsstudie anhand einer Randomisierungsliste zu der Reisskraft des einheitlichen Granulates (Thrombin, Fibrinogen und Faktor XIII in einem Partikel), des Granulat-Gemisches (Fibrinogen-Granulat + Thrombin-Granulat) und des flüssigen Fibrinklebers (Beriplast®):

- 8 -

	Testsubstanz	Reisskraft
	Einheitliches Granulat (Mischgranulat)	3,3 N
5	Granulat-Gemisch	1,8 N
	Beriplast®	1,5 N

10 Die gemessenen Werte zeigen deutlich den Vorteil des einheitlichen Granulates (Mischgranulat) gegenüber dem Granulatgemisch bezüglich der biomechanischen Eigenschaften. Die Menge an aktiven Komponenten war in allen drei Testsubstanzen annähernd identisch.

15 Hinzu kommt, daß das erfindungsgemäße Fibrinklebergergranulat sowohl bei Raumtemperatur als auch bei Temperaturen von 2 - 8°C mindestens 6 - 8 Monate lagerfähig ist, ohne daß die einzelnen Komponenten merklich an Aktivität verlieren.

20 Das erfindungsgemäße rieselfähige Fibrinklebergergranulat unterscheidet sich durch eine einfachere Handhabung von den bisher bekannten Fibrinklebern, da keine Vorbereitungsmaßnahmen notwendig sind und es sich stets im gebrauchsfertigen Zustand befindet. Es ist deshalb ganz besonders für die  
25 Notfallchirurgie geeignet. Es hat außerdem den Vorteil der außerordentlich einfachen Anwendung durch Auftragen auf die Wundflächen nach der Art eines Salzstreuers. Es eignet sich hervorragend für chirurgische Anwendungen, bei denen eine rasche Hämostase durch Aufsaugen von Blut und gleichzeitige  
30 Fibrinklebung erreicht werden soll.

Obwohl mit dem vorstehend genannten Granulaten der Einsatz des Fibrinklebers erheblich erleichtert wird und aufwendige Operationsvorbereitungen unter Einsatz von speziellem Personal  
35 und entsprechendem Material

besteht weiterhin ein Bedarf an einfachen Fibrinkleberzubereitungen, die in jedem ärztlichen Notfallkoffer enthalten und an der Unfallstelle ohne längere Vorbereitungen sofort einsatzfähig sind.

5

Eine Lösung für dieses Problem konnte nun durch die Entwicklung eines Brausegranulats oder eines Brausepulvers zur Erzeugung eines zur Blutstillung geeigneten Schaumes gefunden werden, das außer dem erfindungsgemässen Granulatgemisch oder  
10 Mischgranulat, enthaltend Fibrinogen, Faktor XIII, Thrombin und ein lösliches Kalziumsalz, auch noch die zur CO<sub>2</sub>-Bildung erforderlichen Substanzen enthält.

15

Das erfindungsgemäße Brausegranulat oder Brausepulver hat neben vielen anderen Vorteilen auch den Vorzug, daß durch das Aufschäumen die Granulatmasse aufgelockert und der Zutritt von Flüssigkeit in das Innere der Granulatkörnchen erleichtert wird. Es bildet sich dann sehr schnell ein stabiler Fibrinschaum aus, der die blutende Wunde abdeckt und die Blutung  
20 schnell zum Stillstand bringt. Dabei kann die Schaumbildung direkt auf der Wunde stattfinden, wobei die zur Schaumbildung erforderliche Feuchtigkeit durch das Wundsekret zur Verfügung gestellt wird. Die Schaumbildung kann aber auch zum Beispiel in einer Schale oder auf einem Teller durch Zugabe von  
25 Feuchtigkeit erfolgen und der fertig ausgebildete Schaum dann auf die blutende Wunde gelegt werden. Aufgrund seiner großen Flexibilität kann der so gebildete Schaum nicht nur zur äußerlichen Abdeckung von Wunden, sondern auch bei Blutungen von Operationswunden eingesetzt werden, wobei der Schaum in  
30 die blutende Operationswunde hineingestopft wird und sich dann auf das blutende Gewebe legt und damit eine schnelle Stillung der Blutung bewirkt.

Das erfindungsgemäße Brausegranulat oder Brausepulver kann in  
35 seinem therapeutischen Wert noch weiter verbessert werden.

- 10 -

wenn ihm die Wundheilung fördernde biologische, pflanzliche oder synthetische Wirkstoffe wie Immunglobuline, Chemotherapeutika oder Antibiotika zugesetzt werden. Diese Substanzen werden bei der Herstellung des Granulats oder des Brausepulvers auf das rieselfähige, trockene Fibrinklebergergranulat aufgesprüht oder mit ihm vermischt. Hieraus kann dann auch eine Brausetablette hergestellt werden, die in einer genau dosierten und leicht handhabbaren Form alle zur Herstellung eines zur Blutstillung geeigneten Schaumes enthält.

Im allgemeinen ist es ausreichend, das erfindungsgemäße Brausegranulat oder Brausepulver in einer Menge anzuwenden, die je nach der Größe der blutenden Wunde Fibrinogen in einer Menge von 0,1 bis 2,5 g und Thrombin in einer Menge von weniger als 10 I.E. enthält. Wird eine Brausetablette eingesetzt, können in diese auch Bruchrillen eingeprägt sein, die es ermöglichen, zur Blutstillung kleinerer Wunden einen Teil der Tablette abzuberechnen, wenn die mit dem Tablettenteil erzeugte Schaummeng e zur Stillung der Blutung bereits ausreicht.

Mit den erfindungsgemäßen Granulatgemischen oder Mischgranulaten lassen sich darüber hinaus aber auch zur Blutstillung hervorragend einsetzbare galenische Zubereitungen herstellen, die in einfachster Weise anwendbar sind und auch bei Bedarf an der Unfallstelle sofort zur Verfügung stehen, ohne daß es langwieriger Vorbereitungen bedarf.

Dieses Ziel wird durch ein bioabbaubares Wundvlies erreicht, das auch bei großflächigeren Hautverletzungen Blutungen zum Stillstand bringt. Dabei wird ein Fibrinklebergergranulat auf das aus einem bioabbaubaren Polymeren bestehende Trägermaterial entweder direkt oder zusammen mit einem biokompatiblen Hilfsstoff aufgetragen, in welchem der Fibrinkleber eingebettet-

tet ist. Als hierfür geeignetes Trägermaterial eignen sich vor allem natürliches oder chemisch modifiziertes Kollagen, Keratin, Gelatine, Kohlenhydrate oder Cellulosederivate. Das Trägermaterial kann auch aus einem synthetischen, bio-  
5 abbaubaren Polymeren bestehen. Geeignet sind u.a. Polyhydroxycarbonsäuren, Polyester, Polycyanoacrylate, Polyaminosäuren, Polyalkohole sowie Silikone. Auf dieses Trägermaterial wird vorzugsweise eine Zubereitung aufgetragen, die das Fibrinogen in einer Menge von 0,05 bis 50 mg/cm<sup>2</sup>, vorzugsweise 1 bis 20  
10 mg/cm<sup>2</sup> sowie Thrombin in einer Menge von 1 µg bis 10 mg/cm<sup>2</sup>, vorzugsweise 0,05 bis 2 mg/cm<sup>2</sup> enthält. Zur Verbesserung der Anhaftung können der Fibrinkleberzubereitung als Hilfsstoffe Polyethylenglykol (PEG) mit einer geeigneten Molekülgröße oder ein Gemisch mehrerer Polyethylenglykole unterschiedlicher  
15 Molekülgrößen zugesetzt werden.

Eine weitere Verbesserung bei der Blutstillung lässt sich dadurch erreichen, daß das beschriebene Wundvlies auf eine Bandage oder ein Pflaster aufgetragen wird. Dabei soll die  
20 Bandage an der zur Auflage auf die blutende Wunde vorgesehenen Stelle mit einem erfindungsgemäßen Wundvlies beschichtet sein. Zur Herstellung der erfindungsgemäßen Bandage werden Polyethylenglykol 4000 oder Polyethylenglykol 6000 oder deren Gemische bevorzugt eingesetzt. Dabei wird das Polyethylenglykol zur  
25 Herstellung der Beschichtungsmasse in einem organischen Lösungsmittel, bevorzugt Isopropanol, gelöst, das in einer Konzentration von 0,5 bis 70%, bevorzugt in einer Konzentration von 5 bis 30% (w/v) eingesetzt wird. Das Fibrinklebergranulat wird auf der Bandage ausgebreitet und dann mit der  
30 Isopropanol-Polyethylenglykol 6000-Lösung benetzt. Nach dem Abdampfen des organischen Lösungsmittels erhält man ein bioabbaubares Wundvlies, welches eine gut haftende Fibrinkleberbeschichtung besetzt. Das organische Lösungsmittel eignet sich zur Beschichtung deshalb hervorragend, weil es



- 12 -

die Erhaltung der Aktivität der einzelnen Komponenten gewährleistet. Außerdem bleibt die Granulatform nach Behandlung im organischen Lösungsmittel, bevorzugt Isopropanol, erhalten.

5

Im allgemeinen wird das erfindungsgemäße Wundvlies nur einseitig mit der beschriebenen blutungsstillenden, salben- oder gelartigen Zubereitung versehen. Es gibt allerdings auch Anwendungsfälle, in denen eine zweiseitige Beschichtung des Wundvlieses vorzuziehen ist. Wird die Wunde mit einer derartigen Bandage umwickelt, dann entfaltet sich die blutstillende Wirkung des Fibrinklebers unmittelbar auf der Wunde, sobald unter der Einwirkung des Wundsekrets aus den in der Bandagenauflage enthaltenen Bestandteilen das Fibrin gebildet wird. Die Anwendung kann in vielen Fällen noch dadurch erleichtert werden, daß das erfindungsgemäße Wundvlies auf ein zur Pflasterfertigung geeignetes, wasserdichtes oder wasserdurchlässiges Flächenmaterial aufgetragen wird, wobei an den Rändern des Pflasters Klebeflächen freibleiben, die mit einem physiologisch gut verträglichen Klebstoff beschichtet sind. Mit einem derartigen Pflaster läßt sich die blutende Wunde schnell, einfach und dauerhaft bedecken und bewirkt eine alsbaldige Blutstillung.

10

15

20

25

30

35

- 13 -

und wirksam abdeckt und die Blutung zum Stillstand bringt. Es liegt auf der Hand, daß für diese Einsatzzweck fetthaltige und wasserabstoßende Salbengrundlagen nicht geeignet sind.

5 Der in der erfindungsgemäßen Zubereitungen enthaltene Fibrinkleber enthält eine trockene Mischung von Fibrinogen, Faktor XIII, Thrombin und einem löslichen Kalziumsalz. Die Zubereitung kann zweckmäßigerweise auch in eine Salbentube  
10 abgefüllt werden und ist dann über längere Zeit haltbar und kann in dieser Form unmittelbar eingesetzt werden.

Die Wirksamkeit der vorstehend beschriebenen, zur Blutstillung geeigneten Zubereitungen ist natürlich nur dann gewährleistet, wenn vor ihrer Anwendung der Zutritt von wässrigen Flüssig-  
15 keiten und damit eine vorzeitige Fibrinbildung vermieden wird. Hierauf ist auch schon bei der Herstellung der Zubereitungen Rücksicht zu nehmen. Dabei werden die erfindungsgemässen Granulatgemische oder Mischgranulate mit der hydrophilen, aber wasserfreien Salbengrundlage in an sich bekannter Weise  
20 angeteigt. Die hierbei entstehende salben- oder gelartige Zubereitung kann dann auf das bioabbaubare Trägermaterial zur Herstellung eines Wundvlieses aufgestrichen oder direkt verwendet werden.

25 Eine weitere Verbesserung der erfindungsgemäßen Zubereitungen lässt sich erreichen, wenn außer dem Fibrinkleber weitere, die Wundheilung fördernde biologische, pflanzliche oder synthetische Wirkstoffe wie Immunglobuline, Chemotherapeutika oder Antibiotika zugesetzt werden.

30

Das erfindungsgemäße Wundvlies, die Bandage oder das Pflaster oder die salben- oder gelartige Zubereitung können zur Hämostase innerer oder äußerer Wunden in einfachster Weise wirkungsvoll eingesetzt werden.

- 14 -

Die Erfindung wird durch die nachfolgenden Beispiele erläutert.

### Beispiel 1

5

Herstellung von Fibrinogen-Granulat ohne vorgelegtes Trägermaterial

10 Eine 10 %ige Proteinlösung von Beriplast®-Fibrinogenkonzentrat (enthält auch F XIII) wurde nach dem Top-Spray-Verfahren in Wirbelschicht sprühgetrocknet. Dieses Verfahren wurde in einer GPCG 1-Anlage der Firma Glatt GmbH durchgeführt und ist in der Internationalen Patentanmeldung WO 96/15849 beansprucht und detailliert beschrieben. Die Bedingungen sind:

15

Eingangstemperatur: 37 °C

Ausgangstemperatur: 30 °C

Sprühdruck : 3,0 bar

Sprührate : 3,2 g/min

20

Das derart hergestellte Fibrinogen-Granulat hatte eine mittlere Partikelgröße von 100 µm und war sehr gut löslich. Analytische Aktivitätsmessungen haben gezeigt, daß die Aktivität von Fibrinogen und F XIII durch den Sprühtrocknungs-  
25 prozeß bei diesen Bedingungen nicht beeinträchtigt wird.

### Beispiel 2

30 Herstellung von Fibrinogen-Granulaten mit vorgelegtem Trägermaterial

200 g Mannit oder Albumin wurden in die Sprühtrocknungskammer vorgelegt. Auf die Vorlage wurde 100 g Fibrinogenkonzentrat in Wirbelschicht unter folgenden Bedingungen aufgesprüht:

35

- 15 -

Eingangstemperatur: 30 °C

Ausgangstemperatur: 24 °C

5      Sprühdruk                    : 2,5 bar  
       Sprütrate                : 3,0 - 8,0 g/min

Es resultierte ein rieselfähiges und gut lösliches Granulat mit einer mittleren Partikelgröße von 100 µm, bei dem die Fibrinogen- und F XIII-Aktivität voll wiederfindbar ist.

10

### Beispiel 3

#### Herstellung von Fibrinkleber-Granulat

15      Auf das in Beispiel 1 oder 2 hergestellte Fibrinogen-Granulat wurde eine isopropanolische Thrombin/CaCl<sub>2</sub>-Suspension aufgesprüht. Der Prozeß lief unter folgenden Bedingungen ab:

20      Eingangstemperatur: 30 °C  
       Ausgangstemperatur: 25 °C  
       Sprühdruk                : 2,5 bar  
       Sprütrate                : 3,0 - 8,0 g/min

25      Das auf diese Weise hergestellte Fibrinkleber-Granulat mit einer mittleren Partikelgröße von 100 µm war rieselfähig, staubte nicht und bildete sofort nach Kontakt mit einer wässrigen Lösung ein stabiles, d.h. durch F XIII kovalent vernetztes Fibringerinnsel.

Beispiel 4

## Herstellung von Thrombin-Granulat

- 5 Auf eine Vorlage von Mannit oder Humanserumalbumin wurde eine wässrige 0,3 %ige Thrombin-Lösung aufgesprüht. Die Bedingungen waren wie folgt:

10 Eingangstemperatur: 30 °C  
Ausgangstemperatur: 23 °C  
Sprühdruck : 2,5 bar  
Sprührate : 4,2 g/min

- 15 Die mittlere Partikelgröße des gebildeten Granulates betrug ca. 65 µm. Es war rieselfähig und nicht staubend. Es ließ sich gut mit dem Fibrinogen-Granulat mischen und war auch als Fibrinkleber einsetzbar.

Beispiel 5

- 20 Herstellung eines Fibrinkleber-Granulats aus einer alle Fibrinkleberkomponenten enthaltenden isopropanolischen Suspension

- 25 Entsprechend den Beispielen 1 und 2 wurde in eine Sprühtrocknungskammer, in der entweder überhaupt kein Trägermaterial vorgelegt war oder in der sich ein Trägermaterial wie Mannit, Albumin oder eine oder mehrere pulverförmige Fibrinkleberkomponenten befand, eine isopropanolische Suspension gesprüht,  
30 die alle Fibrinkleberkomponenten, also Fibrinogen, Faktor XIII, Thrombin, CaCl<sub>2</sub> oder ihrer Gemische enthielt, und anschließend in der Wirbelschicht sprühgetrocknet. Der Prozess lief unter folgenden Bedingungen:



- 17 -

Eingangstemperatur: 30° C  
Ausgangstemperatur: 25° C  
Sprühdruck : 2,5 bar  
Sprühdrate : 3,0 bis 8,0 g/min

5

Das auf diese Weise hergestellte Fibrinklebergergranulat mit einer mittleren Partikelgröße von etwa 100 µm war rieselfähig und staubte nicht und bildete sofort nach Kontakt mit einer wässrigen Lösung ein stabiles, vernetztes Fibringerinnsel.

10

#### Beispiel 6

Herstellung einer mit Fibrinkleber beschichteten bioabbaubaren Bandage

15

Auf ein 50 x 50 mm<sup>2</sup> Ethisorb® Patch Typ 6 (Ethicon GmbH) werden 250 mg Fibrinkleberpulver bzw. -granulat aufgetragen und gleichmäßig verteilt (=10 mg Fibrinkleberpulver bzw. -granulat pro cm<sup>2</sup>) verteilt. Dann werden auf die Beschichtung insgesamt 2,5 ml einer Lösung von Isopropanol/20% PEG 6000 gleichmäßig aufgesprüht. Nach Abdampfen des Isopropanols erhält man eine bioabbaubare Bandage, bestehend aus einem Trägermaterial und einer gut haftenden Fibrinkleberbeschichtung, die beim Biegen der Bandage nicht abbröckelt.

25

#### Beispiel 7

Herstellung einer mit Fibrinkleber beschichteten bioabbaubaren Bandage

30

Auf ein 20 x 30 mm<sup>2</sup> großes Vicryl-Vlies (Ethicon GmbH) werden 60 mg Fibrinkleberpulver bzw. -granulat aufgetragen und gleichmäßig verteilt. (= 10 mg Pulver/cm<sup>2</sup>). Dann werden auf die Beschichtung insgesamt 0,6 ml einer Lösung von Isopropanol/20% PEG 6000 gleichmäßig aufgesprüht. Nach dem Abdampfen

35

des Isopropanols wird eine flexible, bioabbaubare Bandage mit einer gut haftenden Fibrinkleberbeschichtung erhalten.

### Beispiel 8

5

#### Mit Fibrinkleber beschichtetes Kollagenvlies

Das Kollagenvlies Interceed (Johnson & Johnson), Größe 50 x 50 mm<sup>2</sup>, wird mit 250 mg Fibrinkleberpulver bzw. -granulat  
10 gleichmäßig versetzt. Dann werden auf die Beschichtung insgesamt 0,6 ml einer Lösung von Isopropanol/10% PEG 6000 gleichmäßig aufgesprüht. Nach Abdampfen des Isopropanols erhält man ein Fibrinkleber-kombiniertes Kollagenvlies.

## Patentansprüche

- 5 1. Rieselfähiges Fibrinkleber-Granulat, dadurch gekennzeichnet, daß es Granulatkörnchen mit einer Partikelgröße von über 50 bis etwa 1000  $\mu\text{m}$  aufweist, die Thrombin, Faktor XIII, Fibrinogen und ein Kalziumsalz enthalten.
- 10 2. Fibrinkleber-Granulat nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Granulat-Körnchen eine Partikelgröße von 100 bis 200  $\mu\text{m}$  aufweisen.
- 15 3. Fibrinkleber-Granulat nach den Ansprüchen 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß es zusätzlich Albumin, Fibronectin und/oder weitere, die Wundheilung fördernde Substanzen enthält.
- 20 4. Brausegranulat oder Brausepulver zur Erzeugung eines zur Blutstillung geeigneten Schaumes, dadurch gekennzeichnet, daß es zusätzlich zu dem rieselfähigen Fibrinkleber-Granulat der Ansprüche 1 bis 3 auch noch zur  $\text{CO}_2$ -Bildung erforderliche Substanzen enthält.
- 25 5. Brausegranulat oder Brausepulver nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß es zur  $\text{CO}_2$ -Bildung eine Mischung aus einem Carbonat und einer physiologisch verträglichen organischen Säure enthält.
- 30 6. Zubereitung zur Stillung von Blutungen, dadurch gekennzeichnet, daß es ein aus einem bioabbaubaren Trägermaterial bestehendes Wundvlies enthält, welches mit einem rieselfähigen Fibrinkleber-Granulat der Ansprüche 1 bis 3 beschichtet ist.

7. Zubereitung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß das Wundvlies mit einer hydrophilen, wasserfreien Salbengrundlage beschichtet ist, in die der Fibrinkleber der Ansprüche 1 bis 3 eingebettet ist.
- 5
8. Wundvlies nach den Ansprüchen 6 und 7, dadurch gekennzeichnet, daß das bioabbaubare Trägermaterial aus natürlichem oder chemisch modifiziertem Collagen, Keratin, Gelatine, Kohlenhydraten oder Cellulosederivaten besteht.
- 10
9. Wundvlies nach den Ansprüchen 6 und 7, dadurch gekennzeichnet, daß das bioabbaubare Trägermaterial aus einem Polymeren aus der Gruppe der Polyhydroxycarbonsäuren, der Polyester, der Polycyanoacrylate, der Polyaminosäuren, der
- 15 Polyalkohole oder der Silikone besteht.
10. Wundvlies nach den Ansprüchen 6 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß es Fibrinogen in einer Menge von 0,05 bis 50 mg/cm<sup>2</sup> und Thrombin in einer Menge von 1 µg bis 20 mg/cm<sup>2</sup> enthält.
- 20
11. Wundvlies nach den Ansprüchen 6 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß die den Fibrinkleber enthaltende Zubereitung einseitig oder beidseitig auf das Trägermaterial aufgetragen ist.
- 25
12. Bandage, dadurch gekennzeichnet, daß sie an der zur Auflage auf die blutende Wunde vorgesehenen Stelle mit einem Wundvlies der Ansprüche 6 bis 11 beschichtet ist.
- 30
13. Pflaster, dadurch gekennzeichnet, daß es aus einem wasserdichten oder wasserdurchlässigen Flächenmaterial besteht, das an der zur Auflage auf die blutende Wunde vorgesehenen Stelle mit einem Wundvlies der Ansprüche 6 bis
- 35 11 beschichtet ist und an den Rändern...

14. Zubereitung zur Stillung von Blutungen, dadurch gekennzeichnet, daß sie aus einer hydrophilen, wasserfreien Salbengrundlage besteht, in die Partikel eines Fibrinklebers der Ansprüche 1 bis 3 eingebettet sind.

5

15. Verfahren zur Herstellung des Fibrinkleber-Granulates der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß alle Bestandteile des Fibrinklebers in einem organischen Lösungsmittel suspendiert und in einem evakuierbaren Behälter mittels eines Fluidisationsgases in der Wirbelschicht bis zu einer Partikelgröße von über 50 bis 1000  $\mu\text{m}$ , vorzugsweise 100 bis 200  $\mu\text{m}$ , spühgetrocknet werden.

10

16. Verfahren nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, daß es mit oder ohne ein in den Behälter vorgelegtes Trägermaterial hergestellt wird.

15

17. Verfahren zur Herstellung eines Fibrinklebers nach den Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß zunächst ein Fibrinogen-Granulat hergestellt wird, auf welches eine Suspension eines organischen Lösungsmittels enthaltend Thrombin aufgesprüht wird, wobei entweder dem Fibrinogen-Granulat oder der Thrombin-Lösung ein Kalziumsalz zugesetzt wird.

20

25

18. Verfahren zur Herstellung eines Fibrinkleber-Granulates nach den Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die separat hergestellten Fibrinogen- und Thrombin-Granulatkörnchen, die jeweils eine Partikelgröße von über 50  $\mu\text{m}$  bis etwa 1000  $\mu\text{m}$  aufweisen, miteinander vermischt werden.

30

19. Verfahren zur Herstellung einer Zubereitung nach den Ansprüchen 6 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß der als Granulatgemisch oder als Mischgranulat vorliegende Fibrin-



- 22 -

kleber auf ein bioabbaubares Trägermaterial aufgeschichtet wird.

20. Verfahren zur Herstellung der Zubereitung von Anspruch  
5 14, dadurch gekennzeichnet, daß ein als Granulatgemisch oder als Mischgranulat vorliegender Fibrinkleber mit der hydrophilen, wasserfreien Salbengrundlage angeteigt wird.
21. Verfahren zur Herstellung einer Zubereitung nach den  
10 Ansprüchen 6 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß dem Fibrinklebergergranulat weitere die Wundheilung fördernde, biologische, pflanzliche oder synthetische Wirkstoffe wie Immunglobuline, Chemotherapeutika oder Antibiotika zugesetzt werden.
- 15 22. Verwendung eines Fibrinkleber-Granulats nach den Ansprüchen 1 bis 5 oder einer Zubereitung nach den Ansprüchen 6 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß es zur Wundheilung in der Chirurgie, der Gewebstherapie und/oder als Trägermaterial für biologische Faktoren eingesetzt wird.
- 20 23. Verwendung des Wundvlieses, der Bandage, des Pflasters oder der Salbe oder gelartigen Zubereitung der Ansprüche 6 bis 14 zur Hemostase innerer oder äußerer Wunden.
- 25 24. Verwendung eines Brausegranulats oder eines Brausepulvers der Ansprüche 4 und 5 zur Herstellung einer Brausetablette durch Verpressen.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 99/06898

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61L24/10 A61L15/32 A61L15/42

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 97 28832 A (NEW GENERATION MEDICAL CORP ;KOSOW DAVID P (US)) 14 August 1997 (1997-08-14) page 4, line 22-25 claims page 5, line 12 -page 6, line 11 ---	1,6-14, 18-20, 22,23
X	US 4 453 939 A (ZIMMERMAN EBERHARD ET AL) 12 June 1984 (1984-06-12)  column 2, line 9-14 examples claims ---	1,3, 6-14, 18-23
A	US 4 427 651 A (STROETMANN MICHAEL) 24 January 1984 (1984-01-24) -----	

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 December 1999

Date of mailing of the international search report

21/12/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL-2280 HV Rijswijk

Authorized officer

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

In International Application No  
PCT/EP 99/06898

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9728832	A	14-08-1997	CA 2245585 A	14-08-1997
US 4453939	A	12-06-1984	DE 3105624 A	02-09-1982
			AT 15143 T	15-09-1985
			CA 1181689 A	29-01-1985
			CS 241502 B	13-03-1986
			DD 206936 A	15-02-1984
			EG 15603 A	30-09-1986
			EP 0059265 A	08-09-1982
			GR 75042 A	12-07-1984
			JP 1368726 C	11-03-1987
			JP 57153645 A	22-09-1982
			JP 61034830 B	09-08-1986
			ZA 8200123 A	24-11-1982
US 4427651	A	24-01-1984	AT 20824 T	15-08-1986
			AT 13810 T	15-07-1985
			EP 0068047 A	05-01-1983
			EP 0068048 A	05-01-1983
			EP 0068149 A	05-01-1983
			JP 1018054 B	03-04-1989
			JP 58038216 A	05-03-1983
			JP 1018055 B	03-04-1989
			JP 58038217 A	05-03-1983
			JP 58036545 A	03-03-1983
			JP 61039824 B	05-09-1986
			JP 61178927 A	11-08-1986
			US 4427650 A	24-01-1984
			US 4442655 A	17-04-1984

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

In internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/06898

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
IPK 7 A61L24/10 A61L15/32 A61L15/42

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 A61L

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 97 28832 A (NEW GENERATION MEDICAL CORP ;KOSOW DAVID P (US)) 14. August 1997 (1997-08-14) Seite 4, Zeile 22-25 Ansprüche Seite 5, Zeile 12 -Seite 6, Zeile 11 ---	1,6-14, 18-20, 22,23
X	US 4 453 939 A (ZIMMERMAN EBERHARD ET AL) 12. Juni 1984 (1984-06-12)  Spalte 2, Zeile 9-14 Beispiele Ansprüche ---	1,3, 6-14, 18-23
A	US 4 427 651 A (STROETMANN MICHAEL) 24. Januar 1984 (1984-01-24) -----	

☐ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

14. Dezember 1999

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

21/12/1999

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2

Bevollmächtigter Bediensteter

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen  
PCT/EP 99/06898

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9728832 A	14-08-1997	CA 2245585 A	14-08-1997
US 4453939 A	12-06-1984	DE 3105624 A	02-09-1982
		AT 15143 T	15-09-1985
		CA 1181689 A	29-01-1985
		CS 241502 B	13-03-1986
		DD 206936 A	15-02-1984
		EG 15603 A	30-09-1986
		EP 0059265 A	08-09-1982
		GR 75042 A	12-07-1984
		JP 1368726 C	11-03-1987
		JP 57153645 A	22-09-1982
		JP 61034830 B	09-08-1986
		ZA 8200123 A	24-11-1982
US 4427651 A	24-01-1984	AT 20824 T	15-08-1986
		AT 13810 T	15-07-1985
		EP 0068047 A	05-01-1983
		EP 0068048 A	05-01-1983
		EP 0068149 A	05-01-1983
		JP 1018054 B	03-04-1989
		JP 58038216 A	05-03-1983
		JP 1018055 B	03-04-1989
		JP 58038217 A	05-03-1983
		JP 58036545 A	03-03-1983
		JP 61039824 B	05-09-1986
		JP 61178927 A	11-08-1986
		US 4427650 A	24-01-1984
		US 4442655 A	17-04-1984



TRANSLATION  
OF THE RELEVANT TEXT PASSAGES  
FROM CITATION D8  
(PRINTED PCT PUBLICATION WO 00/38752)

---

.....

The problem, therefore, arose to develop a granular fibrin adhesive material which is of well soluble, flowable, and non-dusting nature and which, hence, can be directly strewn onto a wound e. g. according to the salt-sprinkler principle.

According to the Invention, this problem is solved by a flowable granular fibrin adhesive material containing thrombin, Factor XIII, fibrinogen, and a calcium salt in form of small granules and of a particle size of more than 50 up to approximately 1,000  $\mu\text{m}$ , preferably of a particle size of from 100 to 200  $\mu\text{m}$ . Due to such a particle size, the granular fibrin adhesive material according to the Invention is of non-dusting, well soluble, and flowable nature and can be readily applied to the area of a wound or a wet tissue where it will form a fibrin matrix at once.

To such a granular fibrin adhesive material, albumin, fibronectin, amino acids, and physiologically compatible, inorganic salts may, moreover, be added. Besides, it may be used as a releasing system for biological, vegetable, and/or synthetical factors. These factors can support wound healing or act as antifibrinolytics, antibiotics, chemotherapeutants or immune modulators. They are added to the granular fibrin adhesive material during the spray drying process.

A suitable process principle for preparing the granular fibrin adhesive material according to the Invention has already become known from International Patent Application WO 96/15849. There, a process for drying blood plasma, blood plasma fractions or blood plasma products obtained therefrom is described,



with which process the material destined for treatment is, in its liquid or dissolved state, sprayed into an evacuable container, whereby drying – up to granular form – will be performed in the fluid bed by means of a fluidisation gas. Such a process can, however, not be readily applied to fibrinogen and thrombin since these substances, as is known, react to fibrin after having contacted aqueous solutions.

That is why an application of aqueous solutions does not come into consideration for spray drying of these components. In order to obtain both components in one particle in spite of all that, the components are, according to the Invention, jointly suspended in a single solvent and spray-dried therefrom. Fibrinogen, thrombin, and Factor XIII can, even in the presence of  $\text{CaCl}_2$ , be suspended in more or less homogeneous a manner in organic solvents such as low alcohols, preferably isopropanol or ethanol, acetone, nitriles, liquid carboxylic acid esters, ethers, chloroform, dimethylformamide, and dimethylsulphoxide without showing a reaction to fibrin. After removal of the organic solvent, they, in their aqueous phase, will be able to form fibrin again.

According to the Invention, spray drying, therewith, will be realised either through the top spray process with which the liquid is conducted in opposition to the stream of the fluidisation gas or along with said stream (bottom spray process). By spraying the liquid material destined for treatment into the evacuable container through a suitable nozzle, fine distribution will be achieved. The fluidisation gas, therewith, serves both for swirling the material to be treated and for heat transfer. That is why a heated gas is used as fluidisation gas. Due to a measurement of the product temperature during the fluid-bed process and a process control based thereon, a product-preserving drying can be maintained. As fluidisation gas, either air or an inert gas like nitrogen may be used. Drying is, therewith, continued for so long until the material destined for treatment is present in form of finely distributed granular material having a particle size of from 50 to approximately 1,000  $\mu\text{m}$ , preferably from 100 to 200  $\mu\text{m}$ .

The granular fibrin adhesive material according to the Invention may be prepared



with or without carrier material presented in the evacuable container. As a carrier material, sugar and sugar alcohols such as saccharose, lactose or mannitol come into consideration, all well compatible from a biological point of view. But also proteins such as serum albumin can be used as a carrier material. It is especially preferred to use the fibrin adhesive components themselves, i. e. fibrinogen, Factor XIII, thrombin,  $\text{CaCl}_2$  or the mixtures thereof, in their pulverulent state as a carrier material onto which the aqueous solution or suspension of the fibrin adhesive components in an organic solvent are sprayed for creating the granular material. No further carrier material such as a sugar, mannitol or albumin will then be added at all.

A process of special preference resides in a two-stage spray drying with which, at first, a granular fibrinogen material is prepared. Apart from fibrinogen, such a granular material may also include other proteins, carbohydrates, amino acids, and physiologically compatible, inorganic salts but, in addition to all that, a calcium salt as well. The particle size of that granular material amounts to more than 50 up to approximately 1,000  $\mu\text{m}$  but, preferably, the particle size amounts to from 100 to 200  $\mu\text{m}$ . Onto that granular fibrinogen material, a fine thrombin suspension in an organic solvent will be sprayed, which suspension may contain dissolved calcium ions, provided that these have not already been added to the granular fibrinogen material. The concentration of the calcium ions amounts to from 1 to 100 mM, preferably from 10 to 50 mM. In this way, a granular fibrin adhesive material is obtained, having a particle size of preferably between 100 and 200  $\mu\text{m}$  as well as a granular structure of very good stability. No compact particles like small pellets will result therewith but a granular material with many fine channels. Thereby, a relatively large particle size will be achieved, making the product dust-free and well soluble at the same time – similar to the well-known instant coffee. Such a granular material can readily be strewn onto the area of a wound and, after having contacted an aqueous medium, will immediately create a solid and elastic fibrin gel.

The granular fibrin adhesive material can, however, also be obtained by spray





drying fibrinogen concentrate from an aqueous solution on a receiver, e. g. mannitol. For this purpose, at first a granular fibrinogen/mannitol material is obtained, onto which material thrombin/calcium salt, e. g. from an isopropanol suspension, will be sprayed then. The organic solvent prevents formation of fibrin after the fibrinogen has contacted the thrombin.

But it is, last but not least, also possible to separately prepare granular fibrinogen and thrombin materials of the aforementioned particle size in separate processes, in which case both substances from aqueous solutions may be spray-dried. However, a sufficient proportion of carrier material is needed when the granular thrombin material is to be prepared since, in the fibrin adhesive, the amount of thrombin, as to its weight, is, by the Factor  $10^2$  to  $10^3$ , smaller than that of fibrinogen. These two granular materials are intermixed and may accordingly be used for hemostasis and wound healing.

.....

A solution to this problem could now be found by developing a granular effervescent material or an effervescent powder for generating a foam suitable for hemostasis, which material or powder, apart from the granular material mixture or mixed, granular material according to the Invention and including fibrinogen, Factor XIII, thrombin, and a soluble calcium salt, additionally includes those substances which are required for  $\text{CO}_2$  formation.

The granular effervescent material or the effervescent powder according to the Invention is, apart from many other advantages, additionally advantageous in that, due to that effervescing, the mass of the granular material will be agitated and admission of liquid into the interior of the granules making up the granular material will be facilitated. Very fast, a stable fibrin foam will then develop, covering the bleeding wound and rapidly putting an end to bleeding. Foam formation may, therewith, take place directly on the wound, the wetness necessary for foam



formation being provided by the wound secretion. But foam formation may also be effected e. g. in a bowl or on a plate by adding wetness and the finish-created foam can then be put onto the bleeding wound. Due to its high flexibility, the thus created foam can be used not only for an external covering of wounds but also in case of bleedings of operation wounds, the foam being stuffed into the bleeding operation wound and, then, settling down on the bleeding tissue and, thus, bringing bleeding rapidly to a stop.

The granular effervescent material or the effervescent powder can, with regard to its therapeutical value, be improved still further when biological, vegetable or synthetical active substances speeding up wound healing and e. g. comprising immune globulines, chemotherapeutants or antibiotics are added thereto. These substances are, during preparation of the granular material or the effervescent powder, sprayed onto the flowable, dry granular fibrin adhesive material or mixed with the latter. Therefrom, also an effervescent tablet may be prepared, including, in an exactly dosed form that can easily be handled, all the things that are required for preparing a foam suitable for hemostasis.

In general, it is sufficient to apply the granular effervescent material or the effervescent powder in an amount containing, according to the largeness of the bleeding wound, fibrinogen in an amount of from 0.1 to 2.5 gms and thrombin in an amount of less than 10 I. E. If an effervescent tablet is used, then also grooves for breaking said tablet in two may be impressed therein, making it possible to break off part of the tablet for hemostasis of wounds of smaller extent when the foam quantity produced by means of said part of the tablet already suffices for hemostasis.

.....

### **Example 1**

#### **Preparation of granular fibrinogen material without presented carrier material**





A 10 % protein solution of Beriplast™ fibrinogen concentrate (also containing F XIII) was, according to the Top Spray Process, spray-dried in a fluid bed. This process was performed in a GPCG1 Installation of Messrs Glatt GmbH and is claimed as well as described in detail in International Patent Application WO 96/15849. The conditions are the following:

inlet temperature: 37°C  
outlet temperature: 30°  
spray pressure: 3.0 bars  
spray rate: 3.2 gms/min

The thus prepared granular fibrinogen material had a mean particle size of 100 µm and a very good solubility. Analytical activity measurements showed that the activity of fibrinogen and F XIII will, under these conditions, not be affected by the spray drying process.

## **Example 2**

### **Preparation of granular fibrinogen materials with presented carrier material**

200 gms of mannitol or albumin were presented in the spray drying chamber. Onto that receiver, 100 gms of fibrinogen concentrate were, under the following conditions, sprayed in a fluid bed:

inlet temperature: 30°C  
outlet temperature: 24°C  
spray pressure: 2.5 bars  
spray rate: 3.0 to 8.0 gms/min

The result was a flowable and well soluble, granular material of a mean particle size of 100 µm, with which material all fibrinogen and F XIII activities can be found



once more.

### **Example 3**

#### **Preparation of granular fibrin adhesive material**

An isopropanol thrombin/ $\text{CaCl}_2$  suspension was sprayed onto the granular fibrinogen material prepared in Example 1 or 2. The Process was run under the following Conditions:

inlet temperature: 30°C  
outlet temperature: 25°C  
spray pressure: 2.5 bars  
spray rate: 3.0 to 8.0 gms/min

The thus prepared granular fibrin adhesive material of a mean particle size of 100  $\mu\text{m}$  was flowable, did not give off dust, and, after having contacted an aqueous solution, at once created a fibrin coagulate of stable nature, i. e. cross-linked by F XIII in covalent manner.

### **Example 4**

#### **Preparation of granular thrombin material**

An aqueous 0.3 % thrombin solution was sprayed onto a receiver of mannitol or human serum albumin. The conditions were the following:

inlet temperature: 30°C  
outlet temperature: 23°C  
spray pressure: 2.5 bars  
spray rate: 4.2 gms/min



The mean particle size of the created granular material amounted to ca. 65  $\mu\text{m}$ . It was of flowable and non-dusting nature. It could be mixed well with the granular fibrinogen material and could also be used as a fibrin adhesive.

.....

### Patent Claims

1. Flowable granular fibrin adhesive material, **characterised in** that its granules are of a particle size of more than 50 up to approximately 1,000  $\mu\text{m}$ , said granules containing thrombin, Factor XIII, fibrinogen, and a calcium salt.
2. Granular fibrin adhesive material according to Claim 1, **characterised in** that its granules are of a particle size of from 100 to 200  $\mu\text{m}$ .
3. Granular fibrin adhesive material according to Claims 1 and 2, **characterised in** that it additionally contains albumin, fibronectin, and/or other substances speeding up wound healing.
4. Granular effervescent material or effervescent powder for producing a foam suitable for hemostasis, **characterised in** that it, in addition to the flowable granular fibrin adhesive material of Claims 1 to 3, contains substances required for  $\text{CO}_2$  formation.
5. Granular effervescent material or effervescent powder according to Claim 4, **characterised in** that it, for  $\text{CO}_2$  formation, contains a mixture of a carbonate and a physiologically compatible, organic acid.
6. Formulation for hemostasis, **characterised in** that it includes a wound fleece consisting of a biologically decomposable carrier material and being coated with a flowable granular fibrin adhesive material of Claims 1 to 3.





7. Formulation according to Claim 6, **characterised in** that the wound fleece is coated with a hydrophilic, anhydrous ointment base in which the fibrin adhesive of Claims 1 to 3 is embedded.
8. Wound fleece according to Claims 6 and 7, **characterised in** that the biologically decomposable carrier material comprises natural or chemically modified collagen, keratin, gelatine, carbohydrates or cellulose derivatives.
9. Wound fleece according to Claims 6 and 7, **characterised in** that the biologically decomposable carrier material comprises a polymer from the group of the polyhydroxy carboxylic acids, the polyesters, the polycyano acrylates, the polyamino acids, the polyalcohols or the silicones.
10. Wound fleece according to Claims 6 to 9, **characterised in** that it includes fibrinogen in an amount of from 0.05 to 50 mgms/cm<sup>2</sup> and thrombin in an amount of from 1 µgm to 20 mgms/cm<sup>2</sup>.
11. Wound fleece according to Claims 6 to 10, **characterised in** that the Formulation containing the fibrin adhesive is applied to the carrier material on one side or both sides thereof.
12. Bandage, **characterised in** that it, at that location which is to be placed onto the bleeding wound, is coated with a wound fleece of Claims 6 to 11.
13. Plaster, **characterised in** that it is made of a water-tight or water-permeable sheet material which, at that location which is to be placed onto the bleeding wound, is coated with a wound fleece of Claims 6 to 11 and, on its edges, shows adhesion surfaces.
14. Formulation for hemostasis, **characterised in** that it comprises a hydrophilic, anhydrous ointment base in which particles of a fibrin adhesive of Claims 1 to 3



are embedded.

15. Process for preparing the granular fibrin adhesive material of Claims 1 to 3, **characterised in** that all the constituents of the fibrin adhesive are suspended in an organic solvent and spray-dried in an evacuable container by means of a fluidisation gas in the fluid bed up to a particle size of more than 50 to 1,000  $\mu\text{m}$ , preferably from 100 to 200  $\mu\text{m}$ .
16. Process according to Claim 15, **characterised in** that the granular fibrin adhesive material is prepared with or without a carrier material presented in the container.
17. Process for preparing a fibrin adhesive according to Claims 1 to 3, **characterised in** that, at first, a granular fibrinogen material is prepared onto which a suspension of an organic solvent is sprayed, said solvent containing thrombin and a calcium salt being added either to the granular fibrinogen material or to the thrombin solution.
18. Process for preparing a granular fibrin adhesive material according to Claims 1 to 3, **characterised in** that the separately prepared fibrinogen and thrombin granules, each being of a particle size of more than 50  $\mu\text{m}$  up to approximately 100  $\mu\text{m}$ , are intermixed.
19. Process for preparing a formulation according to Claims 6 to 14, **characterised in** that the fibrin adhesive present as a mixture of granular materials or as a mixed, granular material is coated onto a biologically decomposable carrier material.
20. Process for preparing the Formulation of Claim 19, **characterised in** that a fibrin adhesive present as a mixture of granular materials or as a mixed, granular material is pasted with the hydrophilic, anhydrous ointment base.





21. Process for preparing a formulation in accordance with Claims 6 to 14, **characterised in** that further biological, vegetable or synthetical active substances speeding up wound healing and including immune globulins, chemotherapeutants, or antibiotics are added to the granular fibrin adhesive material.
22. The use of a granular fibrin adhesive material according to Claims 1 to 5 or a formulation according to Claims 6 to 14, **characterised in** that it is employed for wound healing in surgery, the tissue therapy, and/or as a carrier material for biological factors.
23. The use of the wound fleece, the bandage, the plaster or the ointment or gel-like formulation of Claims 6 to 14 for hemostasis of internal or external wounds.
24. The use of a granular effervescent material or an effervescent powder of Claims 4 and 5 for preparing an effervescent tablet by press compaction.



11